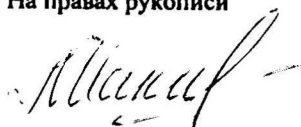


0719526-1

На правах рукописи



ШАКИРОВА Лилия Шамильевна

**ПРОТОЧНО-ИНЖЕКЦИОННЫЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
НЕКОТОРЫХ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ,
АНАЛЬГЕЗИРУЮЩИХ И АНТИАРИТМИЧЕСКИХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ
ЖИДКОСТЯХ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ**

02.00.02 - аналитическая химия

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук**

Казань - 2000

Работа выполнена на кафедре аналитической химии, сертификации и менеджмента качества Казанского государственного технологического университета.

Научные руководители:
НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА
КФУ



0000947701

доктор химических наук,
профессор Евгеньев М.И.,

кандидат химических наук,
доцент Гармонов С.Ю.

Официальные оппоненты: доктор химических наук,
профессор Абдуллин И.Ф.,

доктор химических наук,
профессор Новиков В.Ф.

Ведущая организация: Центр химии лекарственных средств -
Всероссийский научно-исследовательский
химико-фармацевтический институт,
г. Москва

Защита диссертации состоится « 14 » декабря 2000 года в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного Совета К 053.29.02 по химическим наукам Казанского государственного университета по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18, химический факультет, Бутлеровская аудитория.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Н.И. Лобачевского Казанского государственного университета.

Отзывы на автореферат просим присылать по адресу:
420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18, КГУ, научная часть.

Автореферат разослан « 13 » ноября 2000 года

Ученый секретарь
диссертационного Совета,
кандидат химических наук

Федотова Н.Р.

Актуальность темы: Соединения с аминными функциональными группами представляют собой важные классы лекарственных веществ (ЛВ) и находят широкое применение в медицинской практике как эффективные препараты с разнообразной фармакологической активностью (химиотерапевтической, анальгезирующей, антиаритмической и др.). Многокомпонентность технологических смесей синтеза и лекарственных форм, токсичность многих из них при нарушении дозировки, а также генетическая детерминированность и индивидуальная вариабельность процессов их биотрансформации в организме человека требуют применения избирательных, чувствительных методов определения этих ксенобиотиков в биологических жидкостях и лекарственных формах.

В последнее десятилетие в анализе лекарственных веществ, наряду с развитием различных физико-химических методов, наблюдается тенденция к использованию такой аналитической системы, как проточно-инжекционный анализ (ПИА). Этому способствовали такие преимущества ПИА, как простота технического исполнения, высокая производительность, надежность и экономичность определений, возможность получения большого объема аналитической информации. ПИА все шире находит применение для оценки основных параметров, определяющих качество лекарств - их эффективности и безопасности.

Проблемой, ограничивающей применение ПИА в фармацевтическом анализе, является избирательность и чувствительность детектирования определяемых соединений. Это связано со сложным составом анализируемых матриц при низких содержаниях аналита, а также со спецификой значительной части ЛВ и их метаболитов, имеющих высокую полярность, слабо выраженные хромофорные, электрофорные или флуорофорные свойства. Кроме того, измерение аналитического сигнала в неравновесных условиях, когда физические и химические процессы в реакторе не завершены, вызывают необходимость быстрого изменения аналитических свойств ЛВ за время движения определяемого соединения к детектору. Использование большей части реакций дериватизации аминосоединений из-за низкой специфичности взаимодействия и реакционной способности реагентов существенно ограничивает возможности проточно-инжекционного анализа лекарственных веществ.

В то же время существует потребность в использовании таких аналитических реакций, которые благодаря хромофорным свойствам образующихся производных можно использовать в ПИА для селективных и чувствительных определений аминоксодержащих лекарственных веществ в сложных по составу смесях без их разделения.

Целью работы являлось изучение условий проведения реакций дериватизации некоторых аминоксодержащих лекарственных веществ химиотерапевтического, анальгезирующего и антиаритмического действия хлординитрозамещенными бенз-2,1,3-оксадиазолами в системе проточно-инжекционного анализа и разработка методик избирательного и чувствительного определения их в реакционных смесях, лекарственных формах и биологических жидкостях.

Научная новизна:

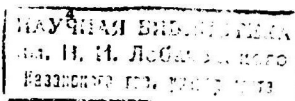
- показана возможность избирательных и чувствительных проточно-инжекционных определений сульфаниламидов, производных п-аминобензойной и п-аминосалициловой кислот, диаминодифенилсульфона, гетероциклических аминов в биологических жидкостях и лекарственных формах;

- изучены спектральные, кислотно-основные и другие характеристики динитробензофуразановых и динитробензофуоксановых производных ряда аминоксодержащих лекарственных веществ химиотерапевтического, анальгезирующего и антиаритмического действия;
- обоснованы условия использования 4-хлор-5,7-динитробензофуразана и его N-оксида при проточно-инжекционных (ПИ) определениях, выработаны критерии их выбора для дериватизации некоторых аминоксодержащих лекарственных веществ различных классов;
- выявлен характер влияния состава потока носителя, физико-химических и гидродинамических характеристик растворителей и компонентов анализируемых сред на избирательность и чувствительность проточно-инжекционных определений;
- для достижения избирательности детектирования определяемых антибиотиков пенициллинового ряда в лекарственных смесях показана возможность использования приема кинетической "дискриминации";
- найдены рабочие условия проточно-инжекционных определений лекарственных веществ в сложных по составу анализируемых матрицах;
- показана возможность использования реакций дериватизации сульфаниламидов для изучения фенотипических особенностей биотрансформации ксенобиотиков в организме человека и проведения спортивного биохимического мониторинга.

Практическая значимость работы. Предложены экспрессные и чувствительные методики проточно-инжекционного, спектрофотометрического определения ряда аминоксодержащих лекарственных веществ химиотерапевтического, анальгезирующего и антиаритмического действия в реакционных смесях, лекарственных формах, биологических жидкостях человека.

В клинических условиях апробированы методики определения сульфаниламидов, производных п-аминобензойной и п-аминосалициловой кислот, диаминодифенилсульфона в различных биологических субстратах, полученных у пациентов в процессе терапевтического мониторинга. Результаты исследования метаболических превращений диуцифона в организме пациентов и фармакокинетики его метаболита диаминодифенилсульфона могут быть использованы для оптимизации безопасного и эффективного клинического использования этого противолепрозного и иммуномодулирующего лекарственного средства. Разработан метод определения генетически детерминированного процесса биотрансформации ксенобиотиков по типу ацетилирования в организме человека при использовании сульфадимезина в качестве фармакогенетического маркера. Метод пригоден для оптимизации безопасной дозировки лекарственных веществ и установления показателя адаптации организма к интенсивной мышечной деятельности.

Результаты работы используются в фармакокинетических исследованиях (Казанский государственный медицинский университет), биохимических исследованиях функционального состояния спортсменов, оценке степени их тренированности (Казанский государственный педагогический университет) и внедрены в лечебную практику Казанской городской клинической больницы № 6. Экспериментальные результаты и выводы на их основе использованы в учебном процессе Казанского государственного технологического университета в курсах "Контроль качества лекарственных препаратов" и "Экологический мониторинг".



На защиту выносятся:

- Результаты изучения и подбор оптимальных условий проведения аналитических реакций аминокислотосодержащих лекарственных веществ химиотерапевтического, анальгезирующего и антиаритмического действия с хлординитрозамещенными бенз-2,1,3-оксадиазола в системе ПИА;
- Обоснование роли растворителя и компонентов анализируемой матрицы в формировании аналитического сигнала при определениях аминокислотосодержащих лекарственных веществ в виде их производных в равновесных и неравновесных условиях;
- Результаты изучения влияния состава потока и его гидродинамических параметров, pH, свойств используемого реагента и определяемого вещества на выбор условий избирательного и чувствительного детектирования сульфаниламидов, производных п-аминобензойной и п-аминосалициловой кислот, диаминодифенилсульфона, п-аминофенола, гетероциклических аминов в виде бензоксадиазольных производных в системе проточно-инжекционного анализа;
- Методики проточно-инжекционного и спектрофотометрического определения сульфаниламидов, производных п-аминобензойной и п-аминосалициловой кислот, диаминодифенилсульфона, п-аминофенола, гетероциклических аминов в промышленных и модельных смесях, лекарственных формах и биологических жидкостях;
- Способ определения фенотипа биотрансформации при использовании сульфадимезина как фармакогенетического маркера и результаты его применения в клинических условиях, а также в режиме профессиональной спортивной деятельности.
- Данные по метаболизму диуцифона в организме человека и возможность их клинико-фармакологического использования.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на V Российском национальном конгрессе "Человек и лекарство" (Москва, 1998), XVI Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Москва, 1998), III Всероссийской конференции "ЭКОАНАЛИТИКА - 98" с международным участием (Краснодар, 1998), V Международной конференции "Наукоемкие химические технологии" (Ярославль, 1998), XII Международной Конференции молодых ученых по химии и химической технологии МКХТ -98 (Москва, 1998), Втором Всероссийском симпозиуме «Проточный химический анализ» (Москва, 1999), Поволжской региональной конференции, посвященной 80-летию со дня рождения А.А. Попова (Казань, 1999), итоговых научных конференциях КГТУ (Казань, 1998 - 2000).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано и прошли рецензирование 9 статей и 9 тезисов докладов.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, трех глав экспериментальной части, в которых описана постановка задачи, аппаратура, объекты и техника эксперимента и изложены результаты с их обсуждением, выводов, заключения и списка цитируемой литературы. Диссертация изложена на 152 страницах, содержит 20 рисунков, 28 таблиц и библиографию 239 наименований. В приложении к диссертации представлены акты использования аналитических методик.

Диссертационная работа выполнена при поддержке Международного Научно-Технического Центра (ISTC, Project № 498, № 1517), индивидуального гранта "Сороковский аспирант" (2000 г.).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Проточно-инжекционные определения проведены с использованием обращенного варианта одноканального проточно-инжекционного анализатора с плунжерным насосом D1 (Mickrotechna) и проточной кюветой объемом 6 мкл с длиной оптического пути 0,5 см. В качестве детектора применяли спектрофотометр Specol-210 (Karl Zeiss Jena). Регистрограммы записывали на самописце TZ-4100. В качестве инжектора использовали шестиходовой кран (Mickrotechna) с калиброванной петлей объемом 110 мкл. Проточные коммуникации были выполнены из тефлоновых трубок с внутренним диаметром 0,6 мм. Длина реакционной спирали составляла 2,5 м.

Спектрофотометрические измерения проведены на спектрофотометре СФ-26. Потенциометрические измерения выполнены на электронном рН-милливольтметре MV-87S (Германия).

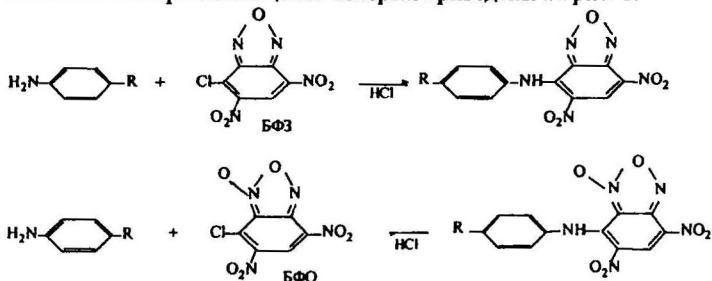
Хроматографические определения проводили с использованием системы HP-1100 с диодно-матричным детектором (Hewlett-Packard, Waldbronn, FRG). Тонкослойная хроматография выполнена на пластинках Силуфол УФ-254.

Все органические соединения промышленного изготовления, а также используемые органические растворители при необходимости подвергали дополнительной очистке по известным методикам. Лекарственные вещества (анестезин (этиловый эфир п-аминобензойной кислоты), новокаин (гидрохлорид диэтиламиноэтилового эфира п-аминобензойной кислоты), новокаиамид (гидрохлорид β -диэтиламиноэтиламида п-аминобензойной кислоты), п-аминосалицилат натрия (ПАСК), стрептоцид (п-аминобензолсульфамид), норсульфазол (2 - (п-аминобензолсульфамидо) - тиазол)), сульфадимезин (2 - (п-аминобензолсульфамидо) - 4,6 - диметилпиримидин)), этазол (2 - (п-аминобензолсульфамидо) - 5 - этил - 1,3,4 - тиадиазол)), сульфацилпиримидин (2 - (п-аминобензолсульфамидо) - 3 - метокси-1,3,4-тиадиазол)), сульфадиметоксин (6 - (п-аминобензолсульфамидо) - 2,4 - диметокси-1,3,4-тиадиазол)), сульфацил-натрий (п-аминобензолсульфамидо - натрий), сульфален (2 - (п-аминобензолсульфамидо) - 3 - метокси-1,3,4-тиадиазол)), сульгин (п-аминобензолсульфогуанидин), фтазалол ((2 - п-фталиламинобензолсульфамидо) - тиазол), букарбан (N - (п-аминобензолсульфонил) - N' - н-бутилмочевина), церукал (4-амино-5-хлор-N-(2-диэтиламино-этил)-2-метоксибензамида гидрохлорид), фуросемид (4-хлор-N(2-фурилметил) 5-сульфаноилантраниловая кислота), диафенилсульфон (4,4'-диамино-дифенилсульфон), диуцифон (4,4' - бис (2,4 - диоксо - 6 - метил - 1,2,3,4 - тетрагидропиримидинил - 5 - сульфонамидо) дифенилсульфон), а также новокаиновая, натриевая, калиевая, N,N-дибензилэтилендиаминная соли бензилпенициллина и их формы (таблетки, инъекционные растворы, мази, сиропы, суппозитории) - фармакопейной чистоты.

Биологические жидкости (плазма крови, цельная кровь) предоставлены станцией переливания крови; моча получена у пациентов 6 клинической больницы г. Казани, а также спортсменов факультета физической культуры КГПУ в процессе клинического и спортивного биохимического мониторинга.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ 4-ХЛОР-5,7-ДИНИТРОБЕНЗОФУРАЗАНА И ЕГО N-ОКСИДА ПРИ ПРОТОЧНО-ИНЖЕКЦИОННЫХ ОПРЕДЕЛЕНИЯХ АМИНОСОДЕРЖАЩИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Для выбора условий избирательного и чувствительного детектирования ЛВ в системе ПИА проведены исследования реакций аминоксодержащих ЛВ с 4-хлор-5,7-динитробензофуразаном (БФЗ) и его N-оксидом - 7-хлор-4,6-динитробензофуросаном (БФО) в равновесных условиях. Взаимодействие БФО и БФЗ с ЛВ в полярных неводных и смешанных растворителях протекает с образованием интенсивно окрашенных соединений, типичные спектры поглощения которых приведены на рис. 1:



Максимумы поглощения соответствующих производных находятся в интервале 470-500 нм, при этом положение и интенсивность полос поглощения определяются природой используемого реагента, электронными эффектами заместителей, растворителем. Более высокие значения молярных коэффициентов поглощения наблюдаются в полярных растворителях (спирты, диметилсульфоксид (ДМСО) и их водные смеси), что позволяет использовать эти среды в качестве рабочих. Сопоставление молярных коэффициентов поглощения продуктов реакции указывает на практически количественное протекание реакций с аналитическими реагентами. Так, например, для анестезина в смеси диметилсульфоксид-вода (10:90, об.) значения ϵ для синтетически выделенного производного и продукта аналитической реакции в тех же условиях составляют 36000 и 34500 л·моль⁻¹·см⁻¹ (λ_m =480 нм), соответственно.

В целом для бензофуросановых производных определяемых соединений характерен более длинноволновый сдвиг полос поглощения по сравнению с аналогичными бензофуразановыми производными ($\Delta\lambda_m$ =20 - 40 нм). При определениях первичных ариламинов с использованием в качестве реагента БФЗ происходит частичное наложение полос поглощения производных (продуктов аналитических реакций) на полосы поглощения гидролизованной формы реагента. В случае динитробензофуросановых производных ариламинов такое наложение полос поглощения продуктов конкурирующих реакций незначительно. В связи с этим при ПИ определениях ЛВ в качестве реагента использован БФО. В то же время для этого реагента характерна и более высокая реакционная способность в реакциях с первичными аминами по сравнению с БФЗ. Выбор аналитических длин волн для детектирования производных в системе ПИА проводили с учетом их спектроскопических характеристик (рис.1).

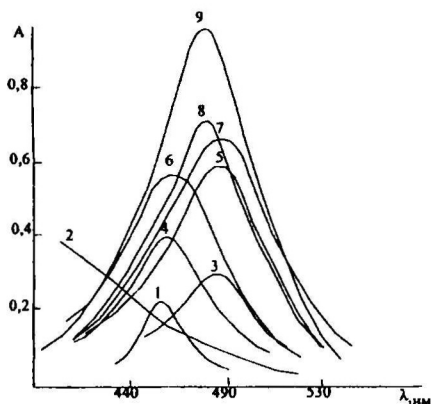


Рис. 1. Спектры поглощения 4,6-динитробензофураксановых (3, 4, 8, 9, 10) и 5,7-динитробензофуразановых (1, 2, 5, 6, 7) производных лекарственных веществ. 1- сульфацил-натрия (10^{-5} М) в воде, pH 6,68; 2-стрептомицида (10^{-4} М) в диметилсульфоксиде, 3- сульфацил-натрия (10^{-5} М) в воде, pH 6,68; 4- букарбана ($1,23 \cdot 10^{-5}$ М) в смеси диметилсульфоксид: вода (1: 99, об.), pH 6,7; 5 -букарбана ($1,4 \cdot 10^{-5}$ М) в смеси метанол: вода (4: 96, об.), pH 6,82; 6 – сульфодиметоксина ($2 \cdot 10^{-5}$ М) в смеси диметилсульфоксид: вода (3:97, об.), pH 6,7; 7 - сульфодиметоксина ($2 \cdot 10^{-5}$ М) в смеси метанол: вода (1, об.), pH 6,74; 8 – сульфалена ($4 \cdot 10^{-5}$ М) в воде, pH 6,74; 9 – норсульфазола ($2 \cdot 10^{-5}$ М) в смеси метанол: вода (10: 90, об.), pH 6,74.

Избирательность спектрофотометрического детектирования ЛВ в системе ПИА определяется природой заместителя в ароматическом ядре определяемого вещества. Для стрептомицида, фталазола, диуцифона образуются производные, для которых характерен гипсохромный сдвиг полос поглощения по сравнению с другими ЛВ. Реакции БФО с натриевой, калиевой и N,N-добензилэтилендиаминовой солями бензилпенициллина не приводят к образованию продуктов, имеющих поглощение при длинах волн 490-520 нм (рис.2). В то же время при использовании БФЗ в потоке наблюдается образование окрашенных производных с этими ЛВ. Эти данные указывают на возможность использования эффекта кинетической «дискриминации» реакций путем вариации реакционной способности используемых реагентов для повышения избирательности аналитических определений новокаиновой соли в системе ПИА. Такой же подход при ПИ определениях ЛВ был использован для регулирования избирательности и чувствительности их детектирования в анализируемой матрице в присутствии других аминокислотных компонентов.

При подборе условий ПИ определений выявлен сложный характер влияния состава реакционной среды, pH, других химических и физических переменных на величину аналитического сигнала. Из-за проявления NH-кислотности динитробензоксадиазольными производными ЛВ повышение кислотности раствора приводит к уменьшению интенсивности длинноволновых полос поглощения и их положения. В проточной системе скорость образования динитробензофураксановых производных ЛВ и, соответственно, интенсивность аналитического сигнала также зависит от величины pH среды. На рис.3 приведена типичная зависимость высоты пика при определении новокаинамида от pH потока. Более высокая интенсивность сигнала и, следовательно, чувствительность определений достигается в нейтральной среде.

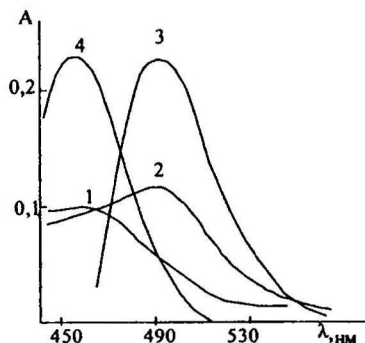


Рис.2. Спектры поглощения 4,6-динитробензофуросановых (3) и 5,7-динитробензофуразановых (1,2,4) производных лекарственных веществ: 1- натриевая соль бензилпенициллина; 2- N,N-дибензилэтилендиаминовая соль бензилпенициллина; 3- новокаиновая соль бензилпенициллина; 4- новокаиновая соль бензилпенициллина. Растворитель: метанол-вода, 30:70 % об. Концентрация, моль/л: 1 - 10^{-4} , 2 - $5 \cdot 10^{-5}$; 3 - 10^{-5} ; 4 - 10^{-5} .

Высокая реакционная способность БФО обеспечивает возможность регистрации продуктов реакции даже в кислых средах, хотя при этом происходит значительное снижение интенсивности сигнала. Уменьшение интенсивности сигнала в щелочных средах связано со снижением эффективной концентрации реагента в потоке из-за влияния конкурирующей реакции БФО с ионами гидроксидов. Для определений использованы потоки, содержащие фосфатный буфер с $\text{pH}=6,86$ - 7,69.

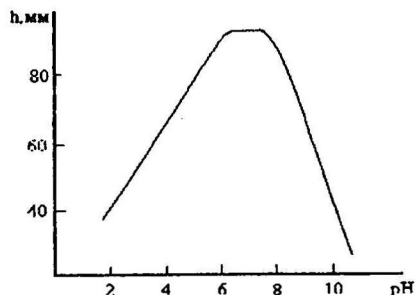


Рис. 3. Зависимость высоты пика при проточно-инжекционных определениях новокаинамида ($7,2 \cdot 10^{-5}$ М) от pH реакционной среды. Поток этанол-фосфатный буферный раствор с pH 6,86 (0,06 М) (30:70, об.). Скорость потока 1,3 мл/мин.

Состав реакционной среды в потоке носителя, природа растворителя для инжестируемого в поток реагента влияют на полноту завершения реакции и интенсивность сигнала при ПИИ определениях ЛВ.

Растворимость определяемых ЛВ и их производных определяет необходимость выбора состава среды. Для производных изученных ЛВ характерна хорошая растворимость в водно-органических средах и биологических жидкостях. Из-за плохой растворимости анестезина, норсульфазола, сульгина, сульфадимезина, сульфалена, сульфапиридазина, сульфадиметоксина и солей бензилпенициллина в воде использованы неводные среды (спирты, ацетонитрил, в ряде случаев ДМСО). Дальнейшее разбавление таких растворов спиртами или их водными смесями при приготовлении рабочих раство-

ров не вызывало седиментации определяемых ЛВ (так, содержание ДМСО в подвижной фазе не превышало 0,5 %, об.).

Использование подвижных фаз на основе малополярных растворителей затрудняется проявлением спектральных равновесий динитробензоксадиазольных производных определяемых веществ, растворимостью соединений и низкой скоростью аналитической реакции. Лучшие условия детектирования наблюдаются в полярных средах, но и в них характерно сильное влияние растворителей на степень завершения реакции и регистрируемый сигнал. При определении проводили в основном в водно-органических смесях, в которых спектральные характеристики производных менялись незначительно. В связи с этим справедливо допущение, что интенсивность фиксируемого сигнала в основном связана со степенью завершенности химической реакции при условии сохранения постоянства гидродинамических параметров в проточной системе.

Таблица 1. - Влияние природы носителя на интенсивность сигнала при определении новокаиамида ($4,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л) и анестезина ($7 \cdot 10^{-6}$ моль/л) в виде 4,6-динитробензофуоркса-новых производных. Концентрация реагента 10^{-2} моль/л, скорость потока 1,15 мл/мин, $\lambda=510$ нм, $\Delta H=1$ мм

Состав потока (объемные %)	Определяемые вещества	Высота пика, (Н, мм)
Метанол (100)	Анестезин	58
Метанол - вода (85 : 15)	Анестезин	84
Метанол - вода (70 : 30)	Анестезин	93
Метанол - вода (50 : 50)	Анестезин	96
Метанол - вода (30 : 70)	Анестезин	98
Метанол - вода (15 : 85)	Анестезин	82
Метанол (100)	Новокаиамид	39
Метанол - вода (30 : 70)	Новокаиамид	44
Этанол (100)	Новокаиамид	45
Этанол - вода (70 : 30)	Новокаиамид	50
Этанол - вода (50 : 50)	Новокаиамид	53
Этанол - вода (30 : 70)	Новокаиамид	62
Этанол - вода (10 : 90)	Новокаиамид	51
Ацетонитрил (100)	Новокаиамид	25
Ацетонитрил - вода (30 : 70)	Новокаиамид	43
ДМСО (100)	Новокаиамид	20
ДМСО : вода (30 : 70)	Новокаиамид	36
Пропанол-2 (100)	Новокаиамид	43
Пропанол-2 - вода (30 : 70)	Новокаиамид	63
Вода (100)	Новокаиамид	32

Типичное влияние состава потока на аналитический сигнал для ПИ определений анестезина и новокаиамида представлено в табл.1. Большая чувствительность достигается в спиртово-водных средах. С точки зрения гидродинамических характеристик используемых растворителей оптимальный состав соответствует этанолно-водной смеси.

В этом потоке сохраняется и гомогенность среды. В других бинарных смесях, а также при проведении определений в неводных средах наблюдается понижение полноты завершения аналитической реакции. Аналогичное влияние состава потока на ПИ определений наблюдаются для сульфаниламидов, новокаиновой соли бензилпенициллина, других ЛВ и п-аминофенола.

Растворитель, используемый для приготовления растворов инжестируемого реагента, также влияет на полноту образования производных ЛВ. Более высокую устойчивость (до 8 часов) реагента обеспечивает ацетонитрил. Чувствительность определений зависит и от концентрации реагента, инжестируемого в поток. При концентрации реагента ниже $8 \cdot 10^{-3}$ моль/л наблюдается понижение интенсивности сигнала. В то же время при концентрациях БФО свыше $4 \cdot 10^{-2}$ моль/л происходило нарушение гомогенности потока, затрудняя проведение аналитических определений (рис.4).

Гидродинамические параметры определяют время пребывания реакционной зоны в системе ПИА, влияя на полноту протекания химической реакции и размывание регистрируемых пиков. При малых скоростях потока наблюдается влияние диффузии, а при больших скоростях уменьшается степень завершения аналитической реакции. Для изученных соединений зависимость интенсивности сигнала от скорости потока имеет плато в интервале 0,6 - 2,6 мл/мин. Длина реактора свыше 250 см при его внутреннем диаметре 0,6 мм не оказывала влияния на интенсивность сигнала. Оптимальный объем инжестируемого раствора реагента составлял 110 мкл.

Аналитические характеристики для ПИ определений исследуемых лекарственных веществ при условиях, описанных выше, представлены в табл. 2. Результаты демонстрируют линейность градуировочных зависимостей в интервале определяемых концентраций. Значения пределов обнаружения, определенных в соответствии с 3S-критерием и производительности определений представлены в табл. 2.

Изучено влияние различных органических и неорганических веществ, являющихся потенциальными компонентами реакционных сред, содержащих ЛВ, на результаты их определений. Присутствие неорганических солей и вспомогательных веществ, входящих в состав таблеток (лимонная и ацетилсалициловая кислоты, аскорбат натрия, глюкоза, сахароза, крахмал и др.), определениям не мешает.

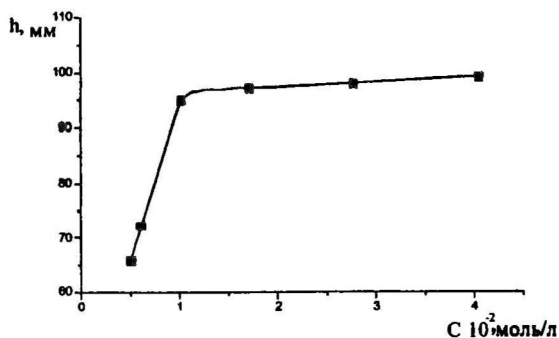


Рис.4. Влияние концентрации инжестируемого реагента на сигнал при проточно-инжекционных определениях новокаина ($5,55 \cdot 10^{-6}$ моль/л). Поток метанол - вода (30:70, об.), pH = 7,12, скорость потока 1,2 мл/мин.

Таблица 2. - Аналитические характеристики проточно-инжекционных определений
аминосоединений

Определяемое вещество	Состав потока	Уравнение регрессии (Н, мм; C _x , мкг/мл)	Интервал определяемых концентраций (мкг/мл)	Кэффициент корреляции	Производительность проб/час	Предел обнаружения, мкг/мл
Анестезин	Метанол-вода (30:70, об.)	$H = 83,84C_x - 0,4$	0,1 - 2,5	0,9998	25	0,04
Новокаин	Метанол-фосфатный буферный раствор с рН 6,68 (30:70, об.)	$H = 63,73C_x + 0,2$	0,12 - 3,5	0,9998	24	0,05
Новокаин-Амид	Этанол-фосфатный буферный раствор с рН 6,68 (30:70, об.)	$H = 48,2C_x - 0,8$	0,16 - 5,0	0,9999	26	0,07
п-Аминосалицилат натрия	Этанол-фосфатный буферный раствор с рН 6,68 (30:70, об.)	$H = 95,1C_x + 0,5$	0,08 - 2,5	0,9999	28	0,03
Норсульфазол	Этанол-фосфатный буферный раствор с рН 6,71 (50:50, об.)	$H = 22,11C_x + 1,33$	0,39 - 3,1	0,9984	17	0,24
Этазол	Этанол-фосфатный буферный раствор с рН 7,4 (30:70, об.)	$H = 40,08C_x - 0,8$	0,31 - 5,0	0,9987	20	0,21
Сульфамиридазин	Этанол-фосфатный буферный раствор с рН 6,8 (30:70, об.)	$H = 32,45C_x - 0,61$	0,28 - 2,8	0,9998	12	0,31
Сульфадимезин	Метанол-вода (30:70, об.)	$H = 40,49C_x - 1,49$	0,28 - 5,0	0,9996	14	0,18
Сульфадиметоксин	Метанол-фосфатный буферный раствор с рН 6,8 (30:70, об.)	$H = 41,72C_x + 1,34$	0,24 - 3,2	0,9998	14	0,12
Сульфацил-натрий	Водный буферный раствор с рН 7,4	$H = 50,14C_x - 0,002$	0,20 - 0,54	0,9983	18	0,13
Сульгин	Метанол-фосфат-ный буферный раствор с рН 6,76 (30:70, об.)	$H = 25,65C_x + 1,00$	0,21 - 2,14	0,9997	19	0,21
Сульфален	Водный буферный раствор с рН 6,71	$H = 42,43C_x - 0,02$	0,22 - 8,4	0,9989	15	0,19
Букарбан	Метанол-фосфатный буферный раствор с рН 6,8 (30:70, об.)	$H = 39,27C_x - 0,31$	0,27 - 2,72	0,9985	16	0,14

Церукал	Водный буферный раствор с pH 6,86	$H = 10,64C_x - 0,36$	1,01 - 8,25	0,9995	31	0,59
Фуросемид	Ацетонитрил-водный буферный раствор с pH 6,86 (15:85, об.)	$H = 8,58C_x + 1,34$	1,65 - 13,22	0,9999	13	0,33
Диаминодифенилсульфон	Этанол-фосфатный буферный раствор с pH 6,0 (30:70, об.)	$H = 89,09C_x - 0,16$	0,99 - 1,49	0,9992	18	0,37
Новокаиновая соль бензилпенициллина	Метанол - вода (30:70, об.)	$H = 140,43C_x + 1,02$	0,04-0,98	0,9993	36	0,025
п-Аминофенол (примесь в парацетамоле)	Этанол- фосфатный буфер с pH 7,69 (75:25, об.)	$H = 139,7C_x + 1,2$	0,04-0,98	0,9992	35	0,025

Таблица 3. - Результаты определения лекарственных веществ в биологических средах методом добавок (n=4, P=0,95)

Биологическая Жидкость	Определяемые вещества	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	S_r
Гидролизат белков	ПАСК	0,55	0,60±0,06	0,06
	Новокаинамид	1,3	1,40±0,13	0,06
Сывороточный альбумин	Новокаинамид	0,85	0,90±0,09	0,06
	ПАСК	1,8	1,80±0,14	0,05
Плазма крови	Новокаинамид	5,12	4,80±0,38	0,05
	ПАСК	16,5	16±1	0,05
	Сульфален	0,9	0,87±0,07	0,05
	Сульфадимезин	1,3	1,35±0,11	0,05
Кровь	ПАСК	4,30	3,90±0,31	0,05
	Новокаинамид	2,8	2,90±0,23	0,05
	Новокаинамид	10,25	10±1	0,05
	ПАСК	28,1	28± 2	0,04
	Сульфадимезин	3,0	2,9±0,2	0,05
Моча	Сульфадиметоксин	2,5	2,6±0,2	0,05
	Сульфадимезин	6,1	6,0±0,5	0,05
	Сульфадимезин	15,5	16±1	0,04
	Сульфален	3,0	2,9±0,2	0,05
	Сульфален	5,8	5,5±0,4	0,04
	Сульфадиметоксин	3,2	3,1±0,3	0,05

Кроме того, избирательные определения этих веществ возможны и в присутствии различных органических компонентов, сопутствующих определяемым веществам (алкиламины, аммиак, алкалоиды, фенол, димедрол, атропин, фурацилин, тримекан, левомецетин, сахара, диуцифон, парацетамол и др.).

Возможность определения лекарственных веществ была проверена и в биологических жидкостях организма человека. ПИ определениям не мешают различные компоненты биологических жидкостей, содержащие аминные функциональные группы (аминокислоты, биогенные амины). Регистрируемые сигналы фона при введении в поток депротеинизированных гидролизата белков, сывороточного альбумина, плазмы крови и цельной крови незначительно отличается от исходного значения. Мешающее влияние биогенных аминокислотосодержащих компонентов мочи можно устранить пробоподготовкой биосубстратов. Это позволяет проводить ПИ определения ЛВ в указанных биологических матрицах (табл.3.).

ПРОТОЧНО-ИНЖЕКЦИОННЫЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ

Избирательность детектирования в системе ПИА химиотерапевтических, анальгезирующих и антиаритмических лекарственных веществ (сульфаниламидов, производных п-аминобензойной и п-аминосалициловой кислот, диаминодифенилсульфона, пенициллинов) в биологических субстратах и лекарственных смесях нашла применение для фармакокинетических исследований, контроля качества лекарственных форм, а также изучения процессов биотрансформации лекарственных веществ в организме человека.

Комплекс методик ПИ определения ЛВ апробирован в контроле качества различных многокомпонентных лекарственных форм (табл.4). Правильность методик ПИ определений ЛВ проверена сопоставлением результатов анализа лекарственных форм по Фармакопее РФ.

Определения токсичного п-аминофенола использованы для оценки безопасности парацетамола, что было проверено на примере анализа готовых лекарственных форм (табл. 5). Содержание токсиканта в отечественных препаратах несколько выше по сравнению с зарубежными аналогами, но не превышает нормы. Кроме того, наблюдается тенденция к увеличению его содержания в процессе хранения лекарственных форм.

Методики ПИ определений, наряду с хроматографическими (ВЭЖХ, ТСХ) и спектрофотометрическими методами, использованы для фармакокинетических исследований ЛВ. При изучении метаболических превращений нового иммуномодулятора диуцифона в организме человека было показано, что одним из продуктов его биотрансформации является диаминодифенилсульфон (ДДС), который обнаруживается в моче пациентов после приема ими как самого диуцифона, так и ДДС (рис.5).

Таблица 4. - Результаты определения лекарственных веществ в лекарственных формах
(n=4, P=0,95).

Состав лекарственной формы	Определяемые вещества	Найдено по Фармакопее РФ, г	Найдено по РМ*, г
Новокаина гидрохлорид - 0,25 г; HCl 0,1н - 0,3 мл; NaCl - 0,85 г; вода до 100 мл	Новокаин	0,24±0,01	0,25±0,01
Раствора CaCl ₂ 6,0 г - 200,0 мл; NaBr - 4,0 г; Новокаина гидрохлорид - 1,0 г	Новокаин	0,98±0,03	1,01±0,03
Эфедрина гидрохлорид - 6,0 г; новокаина гидрохлорид 1% - 200 мл; димедрол - 2,0 г	Новокаин	1,98±0,06	1,99±0,06
Атропина сульфат - 0,02 г; эфедрина гидрохлорид - 0,05 г; новокаина гидрохлорид - 0,04 г; вода до 10,0 мл	Новокаин	0,043±0,002	0,042±0,002
Димедрол - 0,025 г; эфедрин - 0,025 г; новокаина гидрохлорид - 0,2 г; NaCl - 0,06 г	Новокаин	0,18±0,01	0,19±0,01
«Свечи с новокаином», новокаин - 0,1 г	Новокаин	0,11±0,01	0,10±0,01
Свечи «Анестезол»; анестезин - 0,1 г; дерматол - 0,04 г; окись цинка - 0,02 г; ментол - 0,004 г; полиэтиленоксидная основа до 2,73 г	Анестезин	0,095±0,03	0,096±0,02
Новокаин - 0,5 г; анестезин - 0,5 г; ментол - 1,25 г; спирта этилового 70% - 50,0 г	Новокаин Анестезин	0,49±0,02 0,48±0,02	0,50±0,02 0,49±0,01
Натриевая соль бензилпенициллина - 0,05 мг/мл; калиевая соль бензилпенициллина - 0,05 мг/мл	Новокаиновая соль бензилпенициллина	1,8±0,1 мкг/мл	1,8±0,1 мкг/мл
Бициллин - 5	Новокаиновая соль бензилпенициллина	0,89±0,01	0,90±0,01
Таблетки новокаионамида - 0,25 г	Новокаионамид	0,23±0,01	0,22±0,01
3% раствор п-аминосалицилата натрия для инъекций	ПАСК	0,028±0,002 г/мл	0,029±0,003 г/мл
Стрептоцид - 0,75 г; норсульфазол - 0,75 г; тимол - 0,015 г; масло эвкалиптовое - 0,015 г; масло мяты перечной - 0,015 г; этанол 95 % - 1,8 г; сахара - 1,5 г; глицерин - 2,1 г	Норсульфазол	0,75±0,03	0,74±0,03
Таблетки норсульфазола - 0,25 г	Норсульфазол	0,24±0,01	0,24±0,01
Норсульфазол-натрий - 0,5 г; глюкоза - 0,5 г; вода - 9 мл	Норсульфазол	0,51±0,02	0,5±0,02
Сульфадиметоксин - 4 г; левомицетин - 1,0 г; тримекаин - 3,0 г; полиэтиленоксид до 100 г	Сульфадиметоксин	3,9±0,2	4,0±0,2

Таблетки сульфадиметоксина – 0,25 г	Сульфадиметоксин	0,24±0,01	0,25±0,01
Фурацилин - 0,015 г; сульфацил-натрий – 0,1 г; этанол 70 % - 20 мл	Сульфацил-натрий	0,10±0,01	0,11±0,01
Аскорбат натрия - 0,15 г; сульфацил-натрий – 3 г, вода – 7 мл	Сульфацил-натрий	2,9±0,1	2,9±0,1
Таблетки сульфалена – 0,2 г	Сульфален	0,19±0,01	0,20±0,01
Раствор N-метилглюкаминовой соли сульфалена для инъекций	Сульфален	0,094±0,005 г/мл	0,092±0,005 г/мл
Таблетки сульгина – 0,5 г	Сульгин	0,49±0,02	0,50±0,02
Таблетки сульфацилпиридазина - 0,5 г	Сульфацилпиридазин	0,095±0,03	0,096±0,02
Таблетки этазола – 0,25 г	Этазол	0,26±0,01	0,25±0,01
Таблетки букарбана – 0,5 г	Букарбан	0,49±0,02	0,50±0,02
Таблетки сульфадимезина - 0,5 г	Сульфадимезин	0,48±0,02	0,49±0,02

- РМ - разработанная методика

Сопоставление результатов определения ДДС в биологической жидкости при анализе почасовых проб показало хорошее согласование для обоих случаев. В то же время наблюдается различие параметров метаболических превращений ДДС и диуцифона, что можно объяснить низкой растворимостью диуцифона и его пониженной абсорбцией в желудке, которые, по-видимому, и лимитируют выведение препарата из организма.

Сочетание ПИА, хроматографических и спектрофотометрических методов использовано для разработки метода диагностики фенотипа биотрансформации пациентов по типу ацетилирования с использованием сульфадимезина в качестве фармакогенетического маркера. Метод основан на изучении кинетики выведения сульфадимезина с мочой обследуемого после однократного приема разовой дозы препарата. Эта

Таблица 5. - Результаты проточно-инъекционного определения л-аминофенола в лекарственных формах (n=4, P=0,95)

Лекарственные формы	Найдено, %
Парацетамол	$(3,9 \pm 0,2) 10^{-3}$
Панадол	$(2,6 \pm 0,1) 10^{-3}$
Парамол	0,16±0,01 мкг/мл
Эффералган	$(1,30 \pm 0,08) 10^{-3}$
Цитрамон П	$(2,1 \pm 0,1) 10^{-3}$
Дафалган	$(1,10 \pm 0,06) 10^{-3}$
Ди-антальвик	$(1,00 \pm 0,05) 10^{-3}$

Таблица 6 - Кинетические параметры выделения диаминодифенилсульфона с мочой за сутки при пероральном приеме диаминодифенилсульфона и диуцифона.

Кинетические параметры	Диаминодифенил-сульфон (7 пациен-тов)	Диаминодифенилсульфон при приеме диуцифона (20 пациентов)
Период полувыведения, ч	$5,00 \pm 0,5$	$7,3 \pm 0,7$
Количество выводимого вещества в % от дозы	$19,6 \pm 0,9$	$10,5 \pm 0,7$
Максимально выводимое за сутки количество препарата, мг	$39,2 \pm 1,8$	$31,5 \pm 2,1$

процедура не требует инвазивных методов отбора биологических жидкостей, технически проста и информативна. Было показано, что присутствие основного продукта биотрансформации сульфадимезина (ацетильного производного) и других метаболитов в анализируемой матрице не мешает спектрофотометрическому детектированию ЛВ.

Кинетические кривые выведения сульфадимезина с мочой приведены на рис. 6. Как видно, значения кинетических параметров имеют бимодальное распределение и различаются в группах обследуемых (табл.7). Это позволяет оценить генетически обусловленную активность N-ацетилтрансферазы отдельных пациентов. Предложенный подход прошел клиническую апробацию и пригоден для оптимизации безопасной дозировки лекарственных веществ с учетом фенотипических особенностей пациентов, а также может быть использован для профессионального отбора персонала при работе с определенными классами токсикантов, способными к метаболизму по типу ацетилирования.

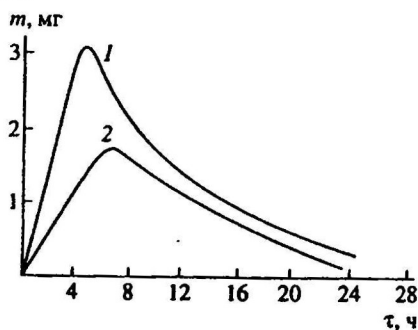


Рис. 5. Фармакокинетические кривые выведения с мочой пациентов диаминодифенилсульфона после перорального приема 200 мг диаминодифенилсульфона (1) и 400 мг диуцифона (2).

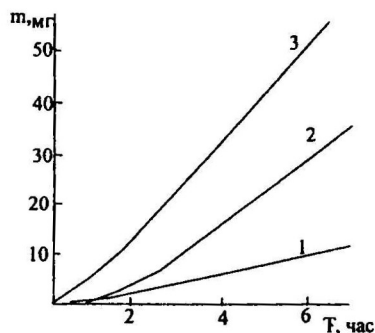


Рис. 6. Фармакокинетические кривые кумулятивного выведения сульфадимезина с мочой после перорального приема 0,5 г препарата: 1 – "сверхбыстрый" тип ацетилирования, 2 – быстрый тип ацетилирования, 3 – медленный тип ацетилирования.

Таблица 7. - Фармакокинетические параметры выведения сульфадимезина с мочой при пероральном приеме пациентами 0,5 г лекарственного вещества

Кинетические параметры	Быстрые ацетиляторы (12 пациентов)	Медленные ацетиляторы (7 пациентов)
Количество выводимого за 7 часов лекарственного вещества в % от дозы	$5,5 \pm 0,6$	$10,1 \pm 1,1$
Константа скорости выведения, час ⁻¹	$0,15 \pm 0,02$	$0,28 \pm 0,03$
Максимально выводимое за 7 часов количество препарата, мг	$27,5 \pm 3,0$	$50,5 \pm 5,5$

Подбор систем лекарственных веществ, увеличивающих или уменьшающих скорость ацетилирования позволяет обеспечить более эффективное и безопасное применение лекарств за счет детоксикации организма. На основании экспериментальных данных предложены индукторы (пантотенат кальция, ксимедон) и ингибиторы (циметидин) N-ацетилтрансферазы.

Разработанный метод определения фенотипа ацетилирования практически использован для изучения влияния мышечных тренировок на процесс ацетилирования сульфадимезина. Для этого были обследованы спортсмены, имеющие большой спортивный стаж. Полученные результаты свидетельствуют, что спортсмены по фенотипу ацетилирования распределились на три группы: "сверхбыстрые", быстрые и медленные (рис. 6). Наличие группы "сверхбыстрых" ацетиляторов установлено впервые, причем они составляют 48,4 % всех испытуемых. Эти данные свидетельствуют о том, что в процессе адаптации организма к систематическим мышечным нагрузкам формируется фенотип "сверхбыстрого" ацетилирования, что является одним из показателей приспособления организма к мышечным нагрузкам. Предлагаемый способ определения типа ацетилирования можно использовать для биохимической оценки степени тренированности спортсменов.

ВЫВОДЫ

1. Впервые показана возможность проточно-инжекционных определений со спектрофотометрическим детектированием химиотерапевтических, анальгезирующих и антиаритмических лекарственных веществ в биологических жидкостях и лекарственных формах. Чувствительность и избирательность детектирования достигается при использовании хлординитрозамещенных бенз-2,1,3-оксадиазола.

2. Установлены рабочие условия проточно-инжекционных определений лекарственных веществ по составу реакционных сред (рН, компоненты потока, природа неводного растворителя) и гидродинамическим характеристикам. Регулирование избирательности и чувствительности спектрофотометрического детектирования определяемых лекарственных веществ достигается выбором реагента, подбором состава растворителя в потоках носителя и реагента, направленным изменением спектральных характеристик

производных определяемых веществ и степенью завершения аналитических реакций в неравновесных условиях.

3. Разработаны избирательные и чувствительные методики проточно-инжекционного определения сульфаниламидов, производных п-аминобензойной, п-аминосалициловой кислот и диаминодифенилсульфона, п-аминофенола, гетероциклических аминов в смесях сложного состава и биологических субстратах с производительностью до 36 проб/час, интервалом определяемых содержаний 0,04 - 13,2 мкг/мл, пределом обнаружения до 0,03 мкг/мл. Методики проточно-инжекционного определения апробированы при контроле качества лекарственных форм, для изучения метаболических превращений диуцифона и в клинических исследованиях.

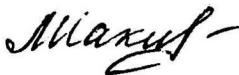
4. Предложен и прошел клиническую апробацию метод установления генетически детерминированных процессов биотрансформации ксенобиотиков в организме человека по типу ацетилирования при использовании сульфадимезина как фармакогенетического маркера. Метод позволяет оптимизировать безопасную дозировку лекарств, осуществлять подбор лекарственных веществ для предотвращения и уменьшения побочных эффектов от их применения с учетом фенотипических особенностей пациентов. Впервые показана тримодальность распределения фенотипа ацетилирования у спортсменов.

Основное содержание диссертационной работы изложено в следующих публикациях:

1. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Евгеньева И.И., Погорельцев В.И., Шакирова Л.Ш. Хлординитрозамещенные бенз-2,1,3-оксадиазола – новые эффективные реагенты в фармацевтическом анализе // Тез. докл. V Российский национальный конгресс "Человек и лекарство". Москва. 1998. С. 649-651.
2. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Евгеньева И.И., Горюнова С.М., Шакирова Л.Ш., Победимский Д.Г. Реакции дериватизации в проточных методах анализа токсичных аминосоединений // Тез. докл. XVI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии. Т.3, Санкт-Петербург. 1998. С. 90-91.
3. Евгеньев М.И., Гармонов С. Ю., Погорельцев В.И., Евгеньева И.И., Шакирова Л.Ш. Аналитические методы при исследовании генетически детерминированных реакций биотрансформации веществ в организме человека // Тез. докл. XVI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии. Т.3. Санкт-Петербург. 1998. С. 91-92.
4. . Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Шакирова Л.Ш., Горюнова С.М., Евгеньева И.И. Хроматографическое исследование реакций биотрансформации аминосодержащих ксенобиотиков в организме человека // Тез. докл. III Всероссийской конференции "ЭКОАНАЛИТИКА - 98". Краснодар. 1998. С. 241-242.
5. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Евгеньева И.И., Шакирова Л.Ш., Победимский Д.Г. Экспресс – методы контроля токсикантов в технологии лекарственных препаратов и биологически активных веществ // Тез. докл. V Международной конф. "Научные химические технологии". Ярославль. 1998. Т.1. С.215-216.
6. Шакирова Л.Ш., Брысаев А.С., Гармонов С.Ю. Хроматографические и спектрофотометрические методы определения аминосоединений в лекарственных препаратах и биологических средах. // Тез. докл. XII Международной Конференции молодых ученых по химии и химической технологии МКХТ -98. Москва. 1998. С. 50.

1. Брысаев А.С., Шакирова Л.Ш., Гармонов С.Ю. Применение 7-хлор-4,6-динитробензофуроксана для анализа п-аминофенола в парацетамоле // Тез. докл. IX Всероссийской студенческой научной конференции. Екатеринбург. 1999. С.15-16.
8. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Шакирова Л.Ш., Брысаев А.С. Спектрофотометрическое определение производных п-аминобензойной и п-аминосалициловой кислот в лекарственных формах и биологических жидкостях. // Хим. - Фарм журнал. 1999. Т.33. №5. С.50-54.
9. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Шакирова Л.Ш. Реакции дериватизации в проточно-инжекционном анализе аминокислотсодержащих лекарственных веществ // Тез. докл. Второго Всероссийского симпозиума «Проточный химический анализ». Москва. 1999. С. 22.
10. Гармонов С.Ю., Шакирова Л.Ш., Евгеньев М.И. Проточно-инжекционный анализ аминокислотсодержащих лекарственных веществ со спектрофотометрическим детектированием // Тез. докл. Поволжской региональной конференции, посвященной 80-летию со дня рождения А.А. Попова. Казань. 1999. С. 95.
11. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Шакирова Л.Ш. Избирательные проточно-инжекционные определения производных 4-аминобензойной и 4-аминосалициловой кислот в смесях. // Журнал аналит. химии. 2000. Т.55. №7. С. 775-784.
12. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Шакирова Л.Ш., Левинсон Ф.С. Спектрофотометрическое и хроматографическое определение сульфаниламидов в биологических жидкостях и лекарственных формах // Журнал аналит. химии. 2000. Т.55. №8. С.888-895.
13. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Шакирова Л.Ш., Брысаев А.С. Спектрофотометрическое и хроматографическое определение п-аминофенола в парацетамоле. // Хим. - Фарм. журнал. 2000. Т.34. №5. С. 52-54.
14. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Шакирова Л.Ш. Проточно-инжекционное определение п-аминофенола в смесях со спектрофотометрическим детектированием. // Заводская лаборатория. 2000 Т.68. №10. С. 19-24.
15. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Шакирова Л.Ш., Погорельцев В.И. Метод определения фенотипа ацетилирования при использовании сульфадимезина как фармакогенетического маркера // Хим. - Фарм журнал. 2000. Т.34. №11. С. 5-8.
16. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Шакирова Л.Ш. Проточно-инжекционный анализ лекарственных веществ (обзор) // Журнал аналит. химии (прошла рецензирование).
17. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Шакирова Л.Ш. Проточно-инжекционное определение новокаиновой соли бензилпенициллина в препаратах пенициллина со спектрофотометрическим детектированием. // Журнал аналит. химии (прошла рецензирование).
18. Абзалов Р.А., Нигматуллина Р.Р., Хайруллина Г.Н., Гармонов С.Ю., Шакирова Л.Ш., Евгеньев М.И. Влияние мышечных тренировок на скорость ацетилирования сульфадимезина // Бюлл. эксперим. биологии и медицины (прошла рецензирование).

Соискатель



Л.Ш. Шакирова

Заказ № 225

Тираж 80 экз.

Офсетная лаборатория Казанского государственного
технологического университета
420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68